



## 歯苔より分離した細菌のL型菌に関する研究

著者	斎藤 昇
号	754
発行年	1972
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/19016">http://hdl.handle.net/10097/19016</a>

氏 名 ( 本 籍 )                      さい                      とう                      のぼる  
   齋                      藤                      昇

学 位 の 種 類                      医                      学                      博                      士

学 位 記 番 号                      医                      第                      7 5 4                      号

学位授与年月日                      昭 和    4 7 年    7 月 1 2 日

学位授与の要件                      学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴                      昭和 3 2 年 3 月  
   東京歯科大学卒業

学位論文題目                      Bacterial L-forms isolated from  
   dental plaques  
   ( 歯苔より分離した細菌の L 型菌に関する  
   研究 )

( 主 査 )

論文審査委員 教授 石 田 名香雄 教授 山 根                      績

教授 菊 地 吾 郎

## 論 文 内 容 要 旨

近年，尿路感染症，全身感染症を中心に各種臨床材料から細菌のL-form が分離され，生体内でのL-form の生成が感染症の慢性化あるいは感染の維持に関与しているのではないかという新しい問題が提起されている。しかし今までの臨床材料からのL-form の分離の報告はほとんど尿，喀痰ないし血液からの分離であり，口腔領域におけるL-form の分離に関する報告はほとんどみられず，口腔内のL-form の生態も臨床的意義も全く明らかにされていない。

本研究は口腔領域におけるL-form の生態と臨床的意義を明らかにすることを目的とし，1)口腔内局所材料からのL-form の分離と同定の方法の検討，2)口腔内におけるL-form の生態，および，3)L-form の抗生物質感受性を検討した。

### 材 料 と 方 法

1. 分離材料とその調整；歯周疾患の認められなかつた139名の歯苔，歯石，齦窩内の歯垢および咽頭ぬぐい液計285検体，および歯槽膿漏，歯肉炎，齦齦，智歯周囲炎などの歯周疾患患者より採取した249検体の歯苔を分離材料とした。歯苔は滅菌綿棒で採取し，歯石は歯苔を注意深く取除いた後 scaler で採取し乳鉢で磨砕して検体とした。齦窩の検体はその中の汚物を取除きできるだけ奥の歯垢を採取した。また3 mlの5%食塩水のうがい液を咽頭ぬぐい液とした。採取直後各検体を3 mlの5%食塩加Heart Infusion broth(HIB)に浮遊しサーモミキサーで充分攪拌した後，ミリポアフィルター(HA type,  $\phi 0.45 \mu$ )を通した通過液を分離材料とした。
2. 分離培地と培養条件；用いた分離培地は炭末処理したHIBに10%馬血清，20% sucrose および0.7%の粉末寒天を添加した培地(Medium A)およびBrain Heart Infusion broth(BHI)に0.5%のBacto-Dextrose，5% NaCl，0.7%粉末寒天および20%馬血清を添加した培地(Medium B)の2種であつた。いずれの培地も寒天平板とし，0.5 mlの分離材料を接種し乾燥しない条件で37℃で好氣的に5～7日間培養した。このL-form分離培地で典型的なコロニー(L-colony)が生じ同時に検体を接種した血液寒天で細菌のコロニーが認められない場合を分離陽性とした。
3. 親の細菌への復帰と同定の方法；分離培地に発育したL-formのコロニーを1% glucoseおよび1% lactoseを含むBHIの半流動寒天培地に接種し37℃，24時間培養した後，HIBおよび血液寒天培地に継代し常法に従つて親の細菌を同定した。
4. 抗生物質感受性試験法；L-formを含む寒天平板(培地はMedium B)に直径6 mmの円形の穴をあけ，0.3 mlの各種抗生物質の溶液を注入し，4℃で15時間拡散した後，37℃で5～6日間培

養し穴の周辺に生じた発育阻止帯の有無より判定し、親細菌はバルブディスク法で検討した。

5. 試験管内における細菌のL-formの誘導方法；口腔材料より分離したブドウ球菌をHIBで培養し対数増殖期の菌を100mcgのpenicillin、20%馬血清および0.6%の粉末寒天を含むBHIに接種し37℃、5-7日間好氣的に培養しL-formを誘導した。また薬剤耐性のブドウ球菌では、1000mcgのmethicillinおよび5000mcgのlysozymeを誘導剤とし同一培地条件で誘導した。

## 結 果 と 考 察

1. 正常人（歯周疾患の認められなかつた者）の口腔材料からのL-formの分離成績；285検体中13株のL-formを分離した。分離率は歯苔で91検体中7株で7.3%，齶窩では22検体中1株で4.8%，咽頭ぬぐい液では121検体中4株で3.2%，歯石では41検体中1株のみで2.4%であつた。このうち9株は*Staphylococcus aureus*のL-formであり、他に*Neisseria catarrhalis*と*Streptococcus faecalis*のL-formがそれぞれ1株と未同定2株であつた。
2. 歯周疾患患者の歯苔からのL-formの分離成績；249検体中66株が分離陽性で分離率は26.5%であり正常人（分離率7.3%）の約4倍であつた。66株中39株が*Sta. aureus*のL-formであり全体の約60%を占めた。他に*Str. faecalis*, *Str. hemolyticus*, *N. catarrhalis*のL-formがそれぞれ4株、6株、6株および未同定11株分離された。なお疾患別では有意の差は認められなかつた。
3. 培地の種類とL-formの分離率；*Sta. aureus*のL-formはMedium Aでは9株のみ分離されたのに対しMedium Bでは48株分離された。一方*N. catarrhalis*のL-formは7株ともMedium Aでのみ分離された。このことはL-formの種類によつて分離培地の選択、改良の必要性を示唆するものであろう。
4. 分離したL-formの抗生物質感受性；15株の*Sta. aureus*のL-formは全て同じ感受性を示し、penicillinのような細胞壁合成阻害剤に対しては全く感受性を示さず、一方streptomycin, kanamycin, tetracyclineおよびマクロライド系抗生物質に対しては親の細菌よりもより感受性であつた。また細胞膜傷害をひき起すcolistin, polymyxin Bなどが25~100mcg/mlの濃度でこれらL-formの発育を阻止した。
5. 薬剤耐性菌のL-formの抗生物質感受性；口腔材料より分離した*Sta. aureus*のerythromycin, leucomycin, spiramycin, lincomycinなどに耐性な株および多剤耐性菌より誘導したL-formは親の細菌と全く同じ感受性を示した。

以上、本報告は正常人の口腔内、特に歯苔に抗生物質感受性の*Sta. aureus*のL-formがかなりの頻度で常在すること、また歯周疾患患者の歯苔からは正常人の約4倍の頻度で同じL-formが分離されることを明らかにした。

## 審 査 結 果 の 要 旨

近年尿路感染症を中心に各種の臨床材料から細菌の L-form が分離され、特に感染症の慢性化に役割をはたす様に解釈されている。しかし現在までのところ材料は殆んど尿、喀痰および血液に限られており、口腔領域からの分離の報告は見あたらない。著者は口腔領域に於ける L-form の生態と臨床的意義を明らかにする事を目的として、1) L-form の分離と同定の方法を検討し、2) 口腔内の L-form の生態および、3) L-form の抗生物質感受性を検討し、次の結果を得た。

第 1 に健康人でも歯周疾患の認められる患者でも分離率の高い材料は歯苔である。

第 2 に歯苔からの L-form の分離率は歯周疾患を有する患者では健康人の約 4 倍の分離率で 25 % にもおよんだ。

第 3 に各種細菌の L-form が分離されたが、大部分は *Sta. aureus* の L-form である。

第 4 に分離培地の種類に応じて各種細菌の L-form の分離率が異なる。換言すればある細菌の L-form の分離を志す時は独特の培地を用意すべきである。

第 5 に健康人、患者を問わず歯苔から分離された *Sta. aureus* の L-form は親の細菌に復帰させると、各種抗生物質に感受性であつた。この事は口腔内から分離される *Sta. aureus* の大部分が各種抗生物質に耐性を示す事実と対比される。

第 6 に口腔内から分離した各種抗生物質に耐性を示す *Sta. aureus* から L-form を誘導し、その L-form に於て薬剤耐性をしらべると親の細菌と全く同様な耐性スペクトルを示した。

以上著者は世界で始めて口腔内の L-form の生態を明らかにし、また親細菌からの誘導や親細菌への復帰を自由に行なう事によつて口腔内の *Sta. aureus* については親細菌として存在する菌叢と L-form として歯苔に存在する菌叢とは別種のものである事を推定させる結果を得た。その業績の独創性に於て本論文は博士号に値するものと認める。